

INTERLEUKIN 12 INDUCER AND PHARMACEUTICAL COMPOSITION**Publication number:** JP10139670**Publication date:** 1998-05-26**Inventor:** YAKIDA TERUKUNI**Applicant:** YAKIDA TERUKUNI**Classification:**

- international: **A61K31/717; A61K35/74; A61P35/00; A61K31/716;
A61K35/66; A61P35/00; (IPC1-7): A61K31/715;
A61K35/74; A61K35/84; C08B37/14**

- european: **A61K35/74; A61K31/717; A61K36/06; A61K36/07;
A61K36/074**

Application number: JP19960315498 19961111**Priority number(s):** JP19960315498 19961111**Also published as:**

EP0844002 (A1)

US6236660 (B1)

[Report a data error here](#)**Abstract of JP10139670**

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain the subject substance capable of inducing interleukin 12 into an organism having tumor cell by including active hemicellulose compound. **SOLUTION:** This inducer comprises (A) an active hemicellulose compound, preferably further, (B) mushroom mycelium component and (C) fungal component of hemolytic streptococcus. Furthermore, the component A is well-known as a physiologically active substance obtained by subjecting a vegetable fiber contained in cell wall of mycelium of mushroom to enzymatic treatment and includes β -(1 \rightarrow 3)D-glucan, etc. When the inducer is administered as a medicinal composition, especially an anticancer agent, the inducer is preferably orally administered at a daily dose of 100-20,000 mg/adult as active ingredient amount.

.....
Data supplied from the **esp@cenet** database - Worldwide

(19)日本特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平10-139670

(43)公開日 平成10年(1998)5月26日

(51)Int.Cl. ⁶	識別記号	F I		
A 6 1 K 31/715	A E D	A 6 1 K 31/715	A E D	
35/74		35/74	A	
35/84	A D U	35/84	A D U A	
C 0 8 B 37/14		C 0 8 B 37/14		
審査請求 未請求 請求項の数7 F D (全 6 頁)				

(21)出願番号	特願平8-315498	(71)出願人	503058108 八木田 旭邦 東京都三鷹市大沢1-1-21
(22)出願日	平成8年(1996)11月11日	(72)発明者	八木田 旭邦 東京都三鷹市大沢一丁目1番21号
		(74)代理人	弁理士 安富 康男 (外1名)

(54)【発明の名称】 インターロイキン12誘導物質及び医薬組成物

(57)【要約】

【課題】 T_H-1、2を、腫瘍細胞を有する生体内に誘導せしめる方法及びそのような誘導作用を有する物質を提供し、更には、これらを活用して医薬組成物を提供する。

【解決手段】 活性化ヘミセルロース (AHC₂) を含有することを特徴とするインターロイキン 12誘導物質。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 活性化ヘミセルロース(AHCC)を含有することを特徴とするインターロイキン12誘導物質

【請求項2】 更に、キノコ菌糸体成分を含有する請求項1記載のインターロイキン12誘導物質。

【請求項3】 更に、溶連菌の菌体成分を含有する請求項2記載のインターロイキン12誘導物質。

【請求項4】 請求項1、2又は3記載のインターロイキン12誘導物質を主成分とすることを特徴とする医薬組成物。

【請求項5】 請求項1、2又は3記載のインターロイキン12誘導物質を主成分とすることを特徴とする抗癌剤。

【請求項6】 請求項1、2又は3記載のインターロイキン12誘導物質を投与することを特徴とする生体内でのインターロイキン12誘導方法。

【請求項7】 請求項1、2又は3記載のインターロイキン12誘導物質を、単独又は併用で、インターロイキン12が生体内に誘導せられる量投与することを特徴とする癌治療方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、インターロイキン12を生体内に誘導することができする物質及びこれを含むする医薬組成物に関する。

【0002】

【従来の技術】インターロイキン12(IL-12)は、初め、NK細胞の活性化作用を有するサイトカインの一つとして発見されたものであるが、その後の研究により、腫瘍細胞に対して特異的な細胞障害活性を有するT細胞(キラーT細胞)の増殖作用及びT細胞活性作用を有することが判明し、更には、キラーT細胞の活性化を促す作用を有するインターフェロン γ (IFN γ)の産生増強作用を有することが認められるに至り、ヒト癌患者の治療に有用な物質として注目されている。

【0003】IL-12については、最近、米国において、遺伝子操作により大量に生産されることに成功した(レコンビナントIL-12(rIL-12))。その後、IL-12を、癌細胞に直接投与する目的で、このインターロイキン12産生遺伝子を癌細胞に遺伝子導入手法により、直接導入する方法も試行されている。

【0004】しかしながら、このような方法に用いられるIL-12は、感受性が低いために、例えば、ヒト癌治療にあっては大量に投与しなければならないが、そのような大量投与は、発熱、食欲不振等を始めとする様々な副作用を伴うことが知られている。この方法には、このように副作用が重大であるほか、遺伝子操作が煩雑であるため多大の労力を要する点、経済性に欠ける点等の問題点が指摘されている。

【0005】IL-12を活用して腫瘍の増殖喪失又は消失を図るためには、IL-12を外部から投与する方法のほか、生体内に自己のIL-12を誘導せしめる方法がある。このような自己IL-12は、異常な免疫反応が生じるおそれもなく、ホーミルIL-12が有する本質的な欠点を解決するとともに、感受性の高いものであるため、多大の腫瘍喪失消失効果が期待されるものであった。しかしながら、自己IL-12を生体内に誘導せしめる作用を有する有効物質は、これまで発見できていないのが現状であった。

【0006】

【発明が解決しようとする課題】上記のような現状に鑑み、本発明は、IL-12を、腫瘍細胞を有する生体内に誘導せしめる方法及びそのような誘導作用を有する物質を提供し、更には、これらを活用して医薬組成物を提供することを目的とするものである。

【0007】

【課題を解決するための手段】本発明は、活性化ヘミセルロース(AHCC)を含有することを特徴とするインターロイキン12誘導物質及びこれを含むする医薬組成物である。以下に本発明を詳述する。

【0008】本発明に係る活性化ヘミセルロース(Active Hemi Cellulose Compound(AHCC))は、キノコの菌糸の細胞壁に含まれる植物繊維を酵素処理した生理活性物質として既に公知の物質であり、 β -(1 \rightarrow 3)-D-グルカン、 β -(1 \rightarrow 6)-D-グルカンのほか、 α -(1 \rightarrow 4)-D-グルカン等のヘテログルカン、ペプチドグルカン、プロテオグルカン、レクチン、核酸、不消化性多糖等を含有するものである。しかしながら、AHCCはIL-12誘導作用があることは全く知られておらず、本発明者によって初めて見いだされたものである。

【0009】本発明のIL-12誘導物質は、上記AHCCのみで構成してもよいが、更にAHCCに加えて、キノコ菌糸体成分を含有せしめることが好ましい。このようなキノコ菌糸体成分としては特に限定されず、例えば、空知の抗腫瘍剤として使用されているサルノコシカケの菌糸体成分であるPSK、スエヒロタケの菌糸体成分であるSPG、シタケの菌糸体成分であるレンチナン等を挙げることができる。また、このようなキノコ菌糸体成分としては、更に、例えば、アガリクス、雲芝、ニンギョウタケ、カワリハラタケ、ニオウシメジ、カバノアケタケ、マイタケ、ヤマブシタケ、ヒラタケ、マンネシタケ、ムキタケ、コブタケ、カイガラタケ、マツタケ、ヒラタケ、ベッコウタケ、ナメタケ、エノキダケ等のキノコ類菌糸体成分を挙げることができる。

【0010】本発明のIL-12誘導物質は、上記AHCC及びキノコ菌糸体成分のみで構成してもよいが、更にこれらに加えて、溶連菌の菌体成分を含有せしめることが好ましい。このような溶連菌の菌体成分としては特

に限定されず、例えば、OK-432等の公知の抗癌剤等を挙げることができる。これらは、生物学的活性化物質(Biological response modifier (BRM))として、既に既知の物質である。

【0011】現代医学における数種の医療である手術、抗癌剤投与、放射線治療、ホルモン療法等は、進行癌や末期癌における腫瘍縮小及び消失には抵抗を示すことが明らかになっているが、本発明のIL-12誘導物質は、こうした進行癌や末期癌における腫瘍縮小及び消失に有効である。この事実は、本発明者が初めて見いだしたものである。このことが本発明の第一の特有の効果である。

【0012】本発明のIL-12誘導物質の投与には、全く副作用が認められない。従来の遺伝子操作で生産されるrIL-12は感受性が低いため大量投与をしなければならぬため、多大の副作用を併発して、患者に甚大な被害を及ぼすことが多かった、しかしながら、本発明のIL-12誘導物質は、生体内に留まっているIL-12産生能力を活性化することをその本質的作用機序とするため、外部からの副作用発生物質を投与するものではなく、全く副作用の心配がないものである。この事実は、本発明者が初めて見いだしたものである。このことが、本発明の第二の特有の効果である。

【0013】本発明の医薬組成物は、上記したIL-12誘導物質を主成分として含有してなるものである。本発明の医薬組成物は、例えば、抗癌剤として使用することができるが、これに限定されるものではない。

【0014】本発明の医薬組成物をヒト又は動物に投与する場合の形態としては特に限定されず、例えば、担体に担持させて種々の医薬品に用いられる剤型として、適宜適用することができる。このような剤型としては、固形、半固形、又は液状の希釈剤、充満剤、及びその他の処方用の助剤一種以上が、例えば、0.1%~99.5%、好ましくは0.5~90%の割合で用いられる。本発明医薬組成物は、経口的又は非経口的に安全に投与することができる。非経口の投与形態として、例えば、組織内投与等の局所投与、皮下投与、筋肉内投与、動・静脈内投与、経直腸投与等が挙げられる。周知慣用の技術手段を用いてこれらの投与方法に適した製剤型を調製すればよい。

【0015】例えば、抗癌剤としての投与量は、患者の年齢、体重、投与経路、疾病の種類や程度等を考慮した上で設定することが望ましいが、ヒトへの投与の場合、通常は、成人に対して有効成分量として、経口的に100~20000mg/日、好ましくは1000~10000mg/日で投与するのが一般的である。また、非経口的には、投与経路により大きく異なるが、通常、100~10000mg/日、好ましくは200~5000mg/日の範囲で投与すればよい。場合によっては、これ以下で充分であるし、また逆にこれ以上の用量を必要とする

こともある。また1日2~4回に分割して投与することもある。

【0016】経口投与は、固形又は液状の用量単位、例えば、末剤、散粒剤、錠剤、カプセル剤、シロップ剤、エリキシル剤又は懸濁剤その他の剤型によって行うことができる。

【0017】本剤は、活性物質を適当な細かさすることにより製造される。散粒剤は活性物質を適当な細かさとし、ついで同様に細かくした医薬用担体、例えば澱粉、マンニトールのような可食性炭水化物その他の賦形剤と混合することにより製造される。必要に応じて調味剤、保存剤、分散剤、着色剤、香料その他のものを混入してもよい。

【0018】カプセル剤は、まず上述のようにして粉末状にした末剤や散粒剤又は錠剤を顆粒化したものを、例えばゼラチンカプセルのようなカプセル外皮の中に充填することにより製造される。また、充填前に滑沢剤や流動化剤、例えばコロイダルシリカ、タルク、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸カルシウム、固形のポリエチレングリコール等を任意に混合しておいてもよい。崩壊剤や可溶性剤、例えばカルボキシメチルセルロース、カルボキシメチルセルロースカルシウム、低濃度塩化ヒドロキシプロピルセルロース、クロスカルメロースナトリウム、カルボキシスターナトリウム、膨脹カルシウム、親脂ナトリウム等を添加すれば、カプセル剤が崩壊したときの医薬の有効性を改善することができる。

【0019】また、本品の微粉末を植物油、ポリエチレングリコール、グリセリン、界面活性剤中に懸濁分散し、これをゼラチンシートで包んで軟カプセル剤とすることができる。

【0020】顆粒剤は、粉末状にした活性物質と上述の賦形剤や崩壊剤を混合したものに、必要に応じて結合剤（例えば、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ヒドロキシプロピルセルロース、メチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ゼラチン、ポリビニルピロリドン、ポリビニルアルコール等）、及び、湿潤剤（例えばシロップ、澱粉糊、アラビアガム、セルロース溶液又は高分子物質濃液等）を加えて練合し、ついで篩を強制通過させて調製することができる。このように粉末を顆粒化するかわりに、まず打錠機にかかれたのち、得られる不完全な顆粒のラックを破砕して顆粒にすることもできる。あらかじめ溶解遅延化剤（例えば、パラフィン、ワックス、硬化ヒマシ油等）、再吸収剤（例えば、四級塩等）又は緩衝剤（例えばベントナイト、カオリン、リン酸カルシウム等）等を混合しておいてもよい。

【0021】錠剤は、このようにして作られる顆粒剤に、滑沢剤としてステアリン酸、ステアリン酸塩、タルク、ミネラルオイルその他を添加し打錠することにより調製することができる。こうして製造した錠剤に更にフ

ィルムコーティングや被衣を施してもよい。

【0022】本発明の活性成分は、上述のように顆粒化やスラック化の工程を経ることなく、流動性の不活性担体と混合した後直接打設してもよい。シラックの密閉液膜からなる透明又は半透明の保護被覆、糖や高分子材料の液被、及び、ワックスよりなる膜上被覆等も用いることができる。

【0023】他の経口投与剤型、例えばシロップ剤、エリキシル剤及び懸濁剤等もまたその一定量が薬物の一定量を含むように用量単位形態にすることができる。シロップ剤は、活性物質を適当な香味水溶液に溶解して製造される。またエリキシル剤は非毒性のアルコール性担体を用いることにより製造される。懸濁剤は、活性物質を非毒性担体中に分散させることにより処方される。懸濁化剤や乳化剤（例えば、エトキシ化されたイソステアリアルアルコール類、ポリオキシエチルソルビトールエステル類）、保存剤、香味剤（例えば、ペパミント油、サッカリン）その他もまた任意に添加することができる。

【0024】必要に応じて、経口投与のための用量単位処方ではマイクログラブ化してもよい。この処方ではまた被覆を施したり、高分子・ワックス等の中に活性物質を埋めこんだりすることにより作用時間の延長や持続放出をもたらすこともできる。

【0025】皮下、筋肉内又は動・静脈内投与は、液状用量単位形態、例えば溶液や懸濁液の形態の注射剤とすることによって行うことができる、これらのものは、活性物質の一定量を、注射の目的に適合する非毒性の液状担体、例えば水性や油性の溶剤に溶解又は懸濁し、ついでの溶液又は懸濁液を滅菌することにより製造される。また、粉末又は凍結乾燥した活性物質の一定量をバイアルにとり、その後バイアルとその内容物を滅菌し密閉してもよい。この場合、投与直前に溶解又は混合するために、予備的なバイアルや担体を準備しておいてもよい。注射液を等張にするために非毒性の塩や塩溶液を添加してもよく、さらに安定化剤、保存剤、懸濁化剤及び乳化剤等を併用することもできる。

【0026】経直腸投与剤型は、油性又は親水性の坐剤、例えばポリエチレングリコール、カカオ脂、高級エステル類（例えば、ミチン酸ミリスチルエステル）及びそれらの混合物に活性物質を練合することによって調製することができる。

【0027】本発明に係るAHC、キノコ菌糸体成分、溶連菌の菌体成分は、IL-12誘導作用を有することから、これらを投与することにより生体内でのIL-12を誘導する方法も、本発明の範囲に含まれるものである。更に、本発明に係るAHC、キノコ菌糸体成分、溶連菌の菌体成分は、IL-12誘導作用を有する

ことから、これらを、そのIL-12を誘導する投与量だけ、単独投与又は併用投与することにより、腫瘍を治療する方法も、また本発明の範囲に含まれるものである。

【0028】

【実施例】以下に本発明の実施例を掲げて本発明を更に詳しく説明するが、本発明はこれら実施例のみに限定されるものではない。

【0029】実施例1

AHCの単独投与例

食道癌を罹患するヒト（72歳、男性）は、頸部リンパ節、腹腔内リンパ節に浸潤した病状を有しており、手術不可能状態、放射線治療にも反応せず、水以外の経口摂取が不可能であった。このヒトに、AHCを3.0g/日の用量で経口投与を連日行ったところ、1か月経過後、3分間、5分間を摂取することが可能となった。血清中のSCC腫瘍マーカーを測定したところ、投与前には23ng/mL（正常値は、2.0ng/mLである）であったものが、投与1か月後には、1.3ng/mLとなり、投与を継続したところ、3か月後には全期の摂取が可能となり、食道透視とCTにより腫瘍が完全に消失していることを確認できた。AHC投与3か月後には、血清中のNK活性は68%（正常値は、40%以下）と高く、血清中のIL-12の値も、78pg/mL（正常値は、7.2pg/mL以下）と高値であった。これらの結果を、表1にまとめた。表1中、CD4は、ヘルパーT細胞。CD8は、キラーT細胞を表す。CD4/CD8の値は、キラーT細胞の増量の度合いを表し、1以下であれば、キラーT細胞が増量していることを表す。正常値は、1.0～1.5である。実施例1におけるCD4/CD8の値は、0.75と細胞障害性キラーT細胞の増量が認められた。

【0030】実施例2

AHCの単独投与例

睾丸腫瘍を罹患するヒト（36歳、男性）は、原発の右睾丸腫瘍は手術により切除された、その後、腹腔リンパ節に小児頭大の転移を生じていた。このヒトに、AHCを3.0g/日の用量で経口投与を連日投与したところ、1か月後には、腫瘍の大きさは約半分となり、3か月継続投与後には、腫瘍が完全に消失した。AHC投与3か月後には、NK活性は13%と低下していたが、IL-12の値は、120pg/mLと極めて高値であった。AHCの抗腫瘍作用は、NK活性によるものではないことが推察できた。これらの結果を、表1にまとめた。

【0031】

【表1】

	ヒト	症状	NK活性	血中IL-12値	治療判定	CD4/CD8値
実施例1	72歳、男性	食道癌 手術不能 放射線治療無効 末期癌	6.8%	7.8 ng/mL	CR 完全寛解	0.75
実施例2	38歳、男性	右睾丸癌 後腹膜リンパ節 転移 末期癌	13%	120 ng/mL	CR 完全寛解	0.52

【0032】実施例3～6

AHC C、サメ軟骨の併用投与例

表2に示す癌罹患ヒトについて、AHC Cを3.0g/日の用量で連日投与すると同時に、サメ軟骨(βシャーケ)を20g/日の用量で経口投与により連日投与した。3カ月投与した後、治療判定とNK活性、IL-12数値及びCD4/CD8の値を測定した。実施例3及び実施例6においては、いずれも50%以上の腫瘍の縮小を認めた。しかし、NK活性は、いずれも正常値であ

り活性が亢進していないことが判った。実施例3～6のいずれにおいても、IL-12値は、正常範囲をはるかに超えて高い値を示した。腫瘍の縮小には、IL-12が関与していることが推察できた。また、サメ軟骨の併用投与には、NK活性に対する効果及びIL-12の亢進に対する効果がないことが、これまでの免疫学的検討で判っている。

【0033】

【表2】

	ヒト	症状	NK活性	血中IL-12値	治療判定	CD4/CD8値
実施例3	72歳、男性	胃癌 進行癌	24%	240 ng/mL	CR 完全寛解	0.34
実施例4	57歳、男性	胃がん 癌性炎症 末期癌	62%	230 ng/mL	CR 完全寛解	0.42
実施例5	89歳、男性	胃癌 肝転移 末期癌	62%	193 ng/mL	CR 完全寛解	0.62
実施例6	71歳、女性	肺癌 肺転移 末期癌	6.8%	7.8 ng/mL	PR 部分寛解	0.84

【0034】実施例7、8

AHC C、PSK、サメ軟骨併用投与例

表3に示す癌罹患ヒトに対して、まず、AHC Cの3.0～6.0g/日及びサメ軟骨の20g/日を経口投与により連日投与したが、腫瘍の縮小は、3カ月で認められずまたIL-12も高い値を示さなかった。そこで、表3に示す癌罹患ヒトに対して、AHC Cの3.0～6.0g/日及びサメ軟骨の20g/日に加えて、PSK(三共社製、クレスチン)3.0g/日を投与したところ、IL-12の値が高くなると同時に腫瘍も50

%以上のPR効果を示した。サメ軟骨の併用投与には、NK活性に対する効果及びIL-12の亢進に対する効果がないことが判った。また、PSKは、3.0g/日の単独投与では腫瘍縮小効果が認められなかった。AHC CとPSKとの併用により始めて現れた効果であることが判った。PSKにも、IL-12産生の亢進作用があることが示唆された。

【0035】

【表3】

	ヒト	症状	NK活性	血中IL-12値	治療判定	CD4/CD8値
実施例7	67歳、男性	左肺癌 右肺転移 肝転移 末期癌	32%	240 ng/mL	PR 右肺転移消失	0.43
実施例8	73歳、女性	右肺癌 左肺転移 肝転移 末期癌	29%	340 ng/mL	PR 肺転移消失	0.34

【0036】比較例1、2

OK-432、PSK、SPG(又はレンチナン)3剤併用投与例

表4に示すように、比較例1では、OK-432(中外

製薬社製、セシバニール)をK区/Wの皮下投与、PSK(三共社製、クレスチン)3.0g/日を経口投与し、更に、SPG(科研製薬社製、ソニフィラン)バイアル/Wを筋注投与して多剤免疫療法効果をみた。比較

例2では、SPGの代わりにレンチナン（山之内製薬社製、レンチナン）を400mg/W静注投与したこと以外は比較例1と同様に投与して多剤免疫療法効果をみた。いずれも、術的腫瘍縮小が認められた。また、IL-12の値を測定したところ、いずれも高値であつ

た。多剤免疫療法における抗腫瘍作用は、IL-12産生の亢進によるものであることが示唆された。

【0037】

【表4】

	ヒ ト	症状	NK活性	血清中IL-12値	治療判定	CD4/CD8値
比較例1	23歳、男性	胃癌 慢性腹膜炎 非原癌	32%	240ng/mL	CR 安全継続	0.72
比較例2	72歳、男性	肝癌 慢性腹膜炎 非原癌	40%	260ng/mL	PR 肝臓2/4 消失	0.32

【0038】進行癌、末期癌の患者に対してBRM製剤を投与してIL-12を誘導することにより腫瘍の縮小や消失を認めた例はこれまでに報告がなく、本発明者が初めて見いだしたものである。このような現象はNK活性のみに起因するものではなく、IL-12の誘導とキラーT細胞の増強をするものであることが明らかとなった。また、IL-12の誘導によって抗腫瘍作用を増強するためには、更に新生血管阻害作用を有するサメ軟骨の併用も効果的であることが判っている。更に、AHCの抗腫瘍作用の増強には、PSKの追加投与も効果的であることが判った。特に、肺癌、肝癌、胃癌、大腸癌、肺癌、腎癌等の症例においては、その傾向が顕著であつた。

【0039】IL-12の誘導には、IL-12以外の他のBRM製剤の併用投与、OK-432、PSK及びSPG（又はレンチナン）の3剤併用投与でも可能であることも判った。

【発明の効果】

【0040】進行癌、末期癌の治療には、現状では、手術、抗癌剤投与、放射線治療、ホルモン療法等の現代医療を駆使しても、ほとんど効果が薄いことが判っており、本発明のIL-12誘導物質及びこれを主成分とする医薬組成物の投与は、これら進行癌、末期癌の治療に有効であり、又は、QOLの改善に有効であり、極めて実用性の高いものである。